

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-065956

(43)Date of publication of application : 05.03.2003

(51)Int.Cl.

G01N 21/64

(21)Application number : 2001-252409

(71)Applicant : HITACHI LTD
HITACHI SCI SYST LTD

(22)Date of filing : 23.08.2001

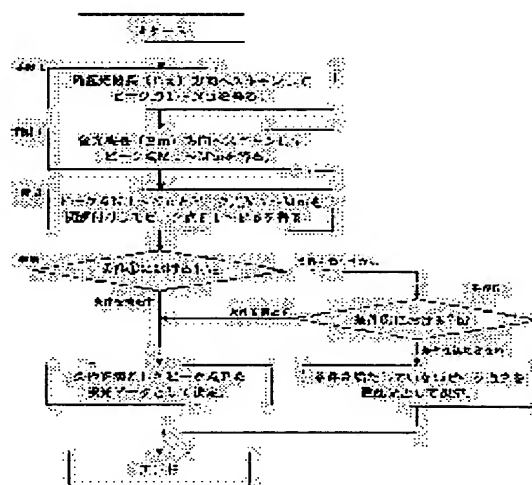
(72)Inventor : KABUKI KOHEI
NAKAMURA KOICHI
OWADA MINORU

(54) FLUORESCENCE-PEAK DETECTING METHOD AND FLUORESCENCE SPECTROPHOTOMETER

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To realize a fluorescence spectrophotometer in which a fluorescence intensity peak can be extracted with satisfactory efficiency from three-dimensional measured data.

SOLUTION: In the fluorescence-peak detecting method in which a fluorescence peak is detected based on three-dimensional setting data on an excitation-light-side wavelength, a fluorescence-side wavelength and a fluorescence intensity obtained as a result by measuring a sample, a peak candidate point obtained by performing the wavelength scanning operation of excitation data in the three-dimensional measured data is compared with a peak candidate point obtained by performing the wavelength scanning operation of fluorescence, and a peak candidate point which is common to both is selected as a three-dimensional peak candidate point. Whether the three-dimensional candidate point is a peak obtained by the fluorescence or not is judged. Thereby, in a fluorophotometer which handles three-dimensional data, a fluorescence peak which appears in a part very close to scattered light and even a peak whose shape is hard to distinguish can be recognized with satisfactory accuracy.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

11.08.2003

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

BEST AVAILABLE COPY

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-65956

(P 2 0 0 3 - 6 5 9 5 6 A)

(43) 公開日 平成15年3月5日(2003.3.5)

(51) Int. Cl. 7

識別記号

F I

テームト* (参考)

G 0 1 N 21/64

G 0 1 N 21/64

Z

2G043

審査請求 未請求 請求項の数6 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願2001-252409(P2001-252409)

(22) 出願日 平成13年8月23日(2001. 8. 23)

(71) 出願人 000005108

株式会社日立製作所

東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地

(71) 出願人 000233550

株式会社日立サイエンスシステムズ

茨城県ひたちなか市大字市毛1040番地

(72) 発明者 株木 耕平

茨城県ひたちなか市市毛882番地 株式会

社日立製作所計測器グループ内

(74) 代理人 100077816

弁理士 春日 譲

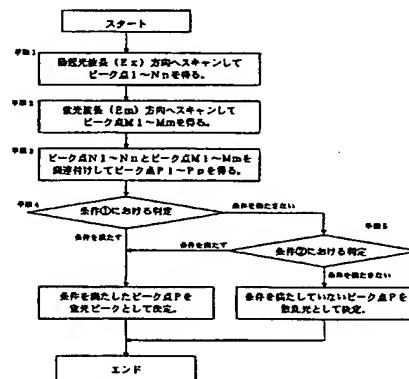
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 蛍光ピーク検出方法及び分光蛍光光度計

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 3次元測定データから、蛍光強度ピークを効率よく抽出可能な分光蛍光光度計を実現する。

【解決手段】 試料を測定した結果として得られる励起光側波長、蛍光側波長及び蛍光強度の三次元設定データから蛍光ピークを検出する蛍光ピーク検出方法において、三次元測定データの励起光の波長スキャンを行って得られたピーク候補点と、蛍光の波長スキャンを行って得られたピーク候補点とを比較して両方に共通するピーク候補点を三次元ピーク候補点として選出する。この三次元ピーク候補点について、蛍光によって得られたピークか否かを判定する。これにより、3次元データを扱う蛍光光度計において、散乱光に非常に近いところに現れた蛍光ピークや、形状が分かりづらいピークであっても精度よく認識することが出来る。



FP03-0303-0002-HP
04. 2. 17
SEARCH REPORT

【特許請求の範囲】

【請求項1】光源、励起光側分光器、蛍光側分光器、蛍光検知器、これらの制御及び情報の収集を行うデータ処理部と、このデータ処理部から得られる情報や各種設定パラメータを表示する表示部とを有する分光蛍光光度計を用いて試料の測定を行い、試料を測定した結果として得られる励起光側波長、蛍光側波長及び蛍光強度の三次元測定データから蛍光ピークを検出する蛍光ピーク検出方法において、
上記三次元測定データの励起光の波長スキャンを行って得られたピーク候補点と、蛍光の波長スキャンを行って

$$|E_x - (E_m \times n)| > (\text{励起光側波長正確さ} + \text{蛍光側波長正確さ}) \quad (\text{式1})$$

1)

あるいは、

$$|E_x - (E_m \times 1/n)| > (\text{励起光側波長正確さ} + \text{蛍光側波長正確さ})$$

(式2)

を満たすか否かが判定され、上記式1又は式2を満たす三次元ピーク候補点を、蛍光ピークとして認識することを特徴とする蛍光ピーク検出方法。

【請求項3】請求項2記載の蛍光ピーク検出方法において、上記データ処理部には、ピーク検出対象となる三次元測定データの励起光側分光器と蛍光側分光器のスリット幅とサンプリング間隔が記憶され、判定対象の上記三次元ピーク候補点が、上記式1あるいは式2を満たしていない場合であり、且つ、蛍光ピーク検出対象のデータが「サンプリング間隔 \geq (励起光側スリットあるいは蛍光側スリットの大きい方の大きさ)」の関係を満たすとき、判定を行っている三次元ピーク候補点の励起光方向の長波長側のデータ列を判断し、上記三次元ピーク候補点と同じ蛍光波長を中心とした任意の波長領域内に他のピーク点があれば、上記三次元ピーク候補点を蛍光ピークとして認識することを特徴とする蛍光ピーク検出方法。

【請求項4】請求項2記載の蛍光ピーク検出方法において、上記データ処理部には、ピーク検出対象となる三次元測定データの励起光側分光器と蛍光側分光器のスリット幅とサンプリング間隔が記憶され、判定対象の上記三次元ピーク候補点が、上記式1あるいは式2を満たしていない場合であり、且つ、蛍光ピーク検出対象のデータが「サンプリング間隔 $<$ (励起光側スリットあるいは蛍光側スリットの大きい方の大きさ)」の関係を満たすとき、判定を行っている三次元ピーク候補点の励起光方向の長波長側のデータ列を判断し、上記三次元ピーク候補点と同じ蛍光波長に他のピーク点があれば上記三次元ピーク候補点を蛍光ピークとして認識することを特徴とする蛍光ピーク検出方法。

【請求項5】光源、励起光側分光器、蛍光側分光器、蛍光検知器、これらの制御及び情報の収集を行うデータ処理部と、このデータ処理部から得られる情報や各種設定パラメータを表示する表示部とを有し、試料を測定して

得られたピーク候補点とを比較して両方に共通するピーク候補点を三次元ピーク候補点として選出し、上記三次元ピーク候補点について、蛍光によって得られたピークか否かを判定することを特徴とする蛍光ピーク検出方法。

【請求項2】請求項1記載の蛍光ピーク検出方法において、上記データ処理部には、励起光側分光器と蛍光側分光器の波長正確さを示すパラメータが記憶され、上記三次元ピーク候補点の蛍光ピーク判定時に、 E_x は励起光波長、 E_m は蛍光波長、 n は整数とすると、

励起光側波長、蛍光側波長及び蛍光強度の三次元測定データを得る分光蛍光光度計において、
上記データ処理部は、上記三次元データから励起光波長と蛍光強度の関係、及び蛍光波長と蛍光強度の関係からそれぞれピーク候補点を検出し、これら2つの関係で得られた各ピーク候補点を関連付けて三次元ピーク候補点を検出し、この三次元ピーク候補点が蛍光によって得られたピークか否かを判定することを特徴とする分光蛍光光度計。

【請求項6】光源、励起光側分光器、蛍光側分光器、蛍光検知器、これらの制御及び情報の収集を行うデータ処理部と、このデータ処理部から得られる情報や各種設定パラメータを表示する表示部とを有し、試料を測定して励起光側波長、蛍光側波長及び蛍光強度の三次元測定データを得、この三次元測定データから蛍光ピーク点を算出する分光蛍光光度計であって、

上記表示部は、上記三次元測定データを励起光側波長と蛍光側波長を座標とした等高線図として二次元表示を行う第1の表示領域と、この第1の表示領域に表示された三次元測定データの蛍光ピークをリスト化して表示する第2の表示領域とを有し、

上記第2の表示領域に表示された蛍光ピークの内、選択された蛍光ピークに対応する励起光側波長及び蛍光側波長を上記第1の表示領域の等高線図上にカーソルにて表示することを特徴とする分光蛍光光度計。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する分野】本発明は、分光蛍光光度計に関する。

【0002】

【従来の技術】分光蛍光光度計においては、光源から放射される光線が励起光側分光器にて波長設定され、その波長設定された単色光が試料セル内の測定試料を照射、励起し、試料から発光した蛍光を蛍光側分光器及び蛍光

検知器を介して検出して、蛍光（励起・発光）スペクトルを測定する。

【0003】このような分光蛍光光度計では、励起波長方向（Ex）および蛍光波長方向（Em）の2方向に波長スキャンを行う機能を持つものがある。このような2方向に波長スキャンを行う分光蛍光光度計により測定された蛍光データは、励起光波長Ex、蛍光波長Em、および蛍光強度Ixmによって表される3次元データとなる。

【0004】このような3次元測定データから、蛍光強度のピークを与える励起光波長および蛍光波長を求めるには、計算機によるデータ解析が有効である。

【0005】しかし、分光蛍光光度計により測定される蛍光強度測定データには、励起光による散乱や、分光器内の分散素子として回折格子を用いることに起因した多次光による散乱の影響が現れる。このような散乱光や多次光は、データ上では見かけ上は蛍光強度ピークとして現れる。

【0006】ここで、図2に散乱ピークを含む測定結果の例を示す。図2は、励起光波長（Ex）と蛍光波長（Em）を各座標として等高線表示した3次元測定データの例を示す図である。図2では、ピーク21、22以外に、2本の帯状の線が斜めに表示されているが、これは非常に強度の強い2種類の散乱ピークが検出されていることを示している。

【0007】このような、散乱光や多次光による見かけの蛍光ピークと真の蛍光ピークとの判別は、従来では、例えば、特開平1-214723号公報や特開平4-157350号公報に開示された例のように、任意の波長における2次元のデータの基での自動判別が行われていた。

【0008】上記特開平1-214723号公報に開示された例は、任意の励起光波長における真の蛍光ピークを見分けるために、励起光波長をシフトさせて蛍光波長を測定し、蛍光波長の変動のなかったピークを真の蛍光ピークとするものである。

【0009】また、特開平4-157350号公報に開示された例は、蛍光スペクトルから、散乱光となる励起光λoの前後（または、 $n\lambda o$ 、 $1/n\lambda o$ の前後）の極小値（即ち最も谷となる部分）を見つけ出してその間を散乱光のピークとし、除外するものである。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】しかし、3次元の測定データにおける散乱光や多次光による見かけの蛍光ピークと真の蛍光ピークとの判別は、2次元のデータにおける判別のときほど容易ではない。

【0011】例えば、上述した従来技術では、蛍光ピーク波長と散乱光波長とが接近している場合や、ある程度波長が離れていても、散乱光強度が非常に大きく、蛍光強度が散乱光ピークの裾野にかかってしまうような場合

には、測定データから真の蛍光波長を残して散乱光や多次光の見かけの蛍光ピークを除外することことは難しくなる。

【0012】例えば、図2に示すような例の場合、蛍光ピーク21のようなピークは、散乱光ピークに非常に近接しているため、特開平4-157350号公報に示されたような散乱光となる波長前後の極小値の間のデータを全て散乱光のピークと見なし機械的に削除してしまうと、検出されることはない。

10 【0013】また、蛍光分光光度計において検出される蛍光ピークは、分光器におけるスリットの大きさ（励起光側分光器と蛍光側分光器でそれぞれスリットを持つが、大きいほうのスリットが問題となる）と、波長方向のサンプリング間隔（取得するデータの波長間隔）の関係によって、その形状が大きく変化する。

【0014】図8の（A）は、サンプリング間隔が例えば10nmで、スリットが4nmの場合を示す。この場合、400nmの波長を測定しようとしても、スリット幅分（約±2nm）の波長の光が400nmの測定値として検出されてしまう。同様に、410nmの位置でもスリット幅分の波長の影響が出る。しかしながら、各サンプリング間隔におけるデータにおいて、隣接するデータの相互干渉は生じていない。

20 【0015】これに対して、図8の（B）は、サンプリング間隔が同じく10nmで、スリットが20nmの場合を示す。この条件の場合、スリット幅が広いため、隣接するデータの相互干渉が生じてしまう。例えば、400nmおよび410nmのデータには、それぞれ400nm～410nmの同じ領域の波長の影響が重複していることになる。

30 【0016】一般的に、図8の（A）のような条件の場合、蛍光ピークとしては、明確なピーク座標を持つピーク（鋭いピーク）が検出される。

【0017】逆に、図8の（B）のような条件の場合の蛍光ピークとしては、ピーク座標が分かりづらい、不明瞭なピーク（山なりのピーク）と成る場合が多い。図2の例で言えば、例えば、ピーク22のような形状である。このような形状のピークは、励起光をずらした時に、同じ蛍光波長の位置にピーク点が存在せず、多少ずれてしまっていることが多く、特開平1-214723号公報のような方法では、蛍光ピークとして認識されなくなってしまう可能性がある。

40 【0018】従って、3次元のデータを扱う従来の分光蛍光光度計では、図2に示すような3次元のデータを表示し、分析者が自らピークと思われる点を見つけ出していた。

【0019】しかし、蛍光ピークの点数が非常に多いような試料の分析では、人の手によって全てのピークを見つけ出すのは労力がかかりすぎる。

50 【0020】また、形状がはっきりしないピークの頂点

を見つけ出すのは、人の感覚では難しく信頼性も低くなる。

【0021】本発明の目的は、上記のような場合であっても、分光蛍光光度計における3次元測定データから、蛍光強度ピークを効率よく抽出可能な分光蛍光光度計を実現することである。

【0022】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成するため、本発明は次のように構成される。

【0023】(1) 光源、励起光側分光器、蛍光側分光器、蛍光検知器、これらの制御及び情報の収集を行うデータ処理部と、このデータ処理部から得られる情報や各種設定パラメータを表示する表示部とを有する分光蛍光光度計を用いて試料の測定を行い、試料を測定した結果として得られる励起光側波長、蛍光側波長及び蛍光強度の3次元測定データから蛍光ピークを検出する蛍光ピーク検出方法において、上記3次元測定データの励起光の波長スキャンを行って得られたピーク候補点と、蛍光の波長スキャンを行って得られたピーク候補点とを比較して両方に共通するピーク候補点を3次元ピーク候補点として選出し、上記3次元ピーク候補点について、蛍光によって得られたピークか否かを判定する。

【0024】(2) 好ましくは、上記(1)において、上記データ処理部には、励起光側分光器と蛍光側分光器の波長正確さを示すパラメータが記憶され、上記3次元ピーク候補点の蛍光ピーク判定時に、 E_x は励起光波長、 E_m は蛍光波長、 n は整数とすると、 $|E_x - (E_m \times n)| > (\text{励起光側波長正確さ} + \text{蛍光側波長正確さ})$ (式1)あるいは、 $|E_x - (E_m \times 1/n)| > (\text{励起光側波長正確さ} + \text{蛍光側波長正確さ})$ (式2)を満たすか否かが判定され、上記式1又は式2を満たす3次元ピーク候補点を、蛍光ピークとして認識する。

【0025】(3) また、好ましくは、上記(2)において、上記データ処理部には、ピーク検出対象となる3次元測定データの励起光側分光器と蛍光側分光器のスリット幅とサンプリング間隔が記憶され、判定対象の上記3次元ピーク候補点が、上記式1あるいは式2を満たしていない場合であり、且つ、蛍光ピーク検出対象のデータが「サンプリング間隔 \geq (励起光側スリットあるいは蛍光側スリットの大きい方の大きさ)」の関係を満たすとき、判定を行っている3次元ピーク候補点の励起光方向の長波長側のデータ列を判断し、上記3次元ピーク候補点と同じ蛍光波長を中心とした任意の波長領域内に他のピーク点があれば、上記3次元ピーク候補点を蛍光ピークとして認識する。

【0026】(4) また、好ましくは、上記(2)において、上記データ処理部には、ピーク検出対象となる3次元測定データの励起光側分光器と蛍光側分光器のスリット幅とサンプリング間隔が記憶され、判定対象の上記

3次元ピーク候補点が、上記式1あるいは式2を満たしていない場合であり、且つ、蛍光ピーク検出対象のデータが「サンプリング間隔 $<$ (励起光側スリットあるいは蛍光側スリットの大きい方の大きさ)」の関係を満たすとき、判定を行っている3次元ピーク候補点の励起光方向の長波長側のデータ列を判断し、上記3次元ピーク候補点と同じ蛍光波長に他のピーク点があれば上記3次元ピーク候補点を蛍光ピークとして認識する。

【0027】(5) 光源、励起光側分光器、蛍光側分光器、蛍光検知器、これらの制御及び情報の収集を行うデータ処理部と、このデータ処理部から得られる情報や各種設定パラメータを表示する表示部とを有し、試料を測定して励起光側波長、蛍光側波長及び蛍光強度の3次元測定データを得る分光蛍光光度計において、上記データ処理部は、上記3次元データから励起光波長と蛍光強度の関係、及び蛍光波長と蛍光強度の関係からそれぞれピーク候補点を検出し、これら2つの関係で得られた各ピーク候補点を関連付けて3次元ピーク候補点を検出し、この3次元ピーク候補点が蛍光によって得られたピークか否かを判定する。

【0028】(6) 光源、励起光側分光器、蛍光側分光器、蛍光検知器、これらの制御及び情報の収集を行うデータ処理部と、このデータ処理部から得られる情報や各種設定パラメータを表示する表示部とを有し、試料を測定して励起光側波長、蛍光側波長及び蛍光強度の3次元測定データを得、この3次元測定データから蛍光ピーク点を算出する分光蛍光光度計であって、上記表示部は、上記3次元測定データを励起光側波長と蛍光側波長を座標とした等高線図として二次元表示を行う第1の表示領域と、この第1の表示領域に表示された3次元測定データの蛍光ピークをリスト化して表示する第2の表示領域とを有し、上記第2の表示領域に表示された蛍光ピークの内、選択された蛍光ピークに対応する励起光側波長及び蛍光側波長を上記第1の表示領域の等高線図上にカーソルにて表示する。

【0029】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施形態を添付図面を参照して説明する。まず、図1を参照して、分光蛍光光度計について説明する。図1において、光源1から放射される光線は、励起光側分光器2に入射する。励起光側分光器2の設定波長は、パルスモータ3によって制御される。パルスモータ3の動作は、データ処理装置(演算制御手段)4からインターフェース5を介してパルスモータ3に指示が出されることによって制御され、データ処理装置4からの指示は、データ処理装置4中のメモリに記憶されたプログラムによって出される。

【0030】励起光側分光器2によって取り出された単色光は、ビームスプリッタ13を介して試料セル7内の測定試料8を照射し、測定試料8から放射された蛍光は、蛍光側分光器9に入射する。

【0031】蛍光側分光器9は、パルスモータ10によって駆動されるが、その動作はパルスモータ3と同様に、データ処理装置4により制御される。蛍光側分光器9により選択された波長の蛍光は、検知器11に入射し、電気信号に変換される。

【0032】なお、励起光側分光器2及び蛍光側分光器9の動作の設定は、CRTや液晶等の表示装置をもつ操作パネル6を介して分析者によって設定される。また、励起光側分光器2及び蛍光側分光器9は、それぞれ光の入射位置及び出射位置にさまざまな幅を持つ複数のスリットを備えている(図示せず)。スリット幅は、測定に応じて任意に変更される。

【0033】検知器11により変換されたその電気信号は、アナログーデジタル変換器12によってデジタル信号に変換される。

【0034】一方、励起光側分光器2から取り出された単色光の一部は、光源光量をモニタするため、ビームスプリッタ13を介して、モニタ検知器14に入射し、電気信号に変換される。モニタ検知器14により変換された電気信号も、アナログーデジタル変換器12によってデジタル信号に変換される。

【0035】検知器11からのデジタル信号(S)と、モニタ検知器14からのデジタル信号(M)とは、データ処理装置4に送られ、お互いの比(S/M)が算出され、この比が各波長における蛍光強度として、データ処理装置4の内部メモリに記憶される。なお、モニタ検知器14を省略し、励起光側分光器2から直接デジタル信号として光量のデータをデータ処理装置4に送ることも可能である。

【0036】次に、データ処理装置4における処理について説明する。上記装置によって得られる測定データは、励起光波長、蛍光波長、蛍光強度の3パラメータから成る3次元のマトリクスデータである。測定時は、まず任意の励起光波長において、蛍光側分光器9を所定のサンプリング間隔で駆動することで蛍光波長を走査して蛍光強度を検出することで蛍光スペクトルを得る。そして、励起光側分光器2をサンプリング間隔分だけ駆動し

$$|Ex - (Em \times n)| > (\text{励起光側波長正確さ} + \text{蛍光側波長正確さ}) \dots$$

条件①-1

あるいは、

$$|Ex - (Em \times 1/n)| > (\text{励起光側波長正確さ} + \text{蛍光側波長正確さ}) \dots$$

・条件①-2

ただし、nは整数である。

【0045】ここで、励起光側波長正確さ、蛍光側波長正確さとは、波長精度のことである。具体的には、装置の示す波長値が、実際の波長値とどの程度ずれる可能性があるかを規定する装置仕様値を示す。例えば、励起光が100nmの場合、散乱光のピークは100nm、あるいはそのn倍や1/n倍のところに現れるはずであるが、分光器の特性によって、実際にはこの波長からずれ

て次の波長に設定し、同様に、蛍光側分光器9を駆動することで蛍光スペクトルを得る。これを繰り返すことによって3次元の測定データを得ることが出来る。

【0037】データ処理装置4では、測定を繰り返すごとにその測定結果(3次元測定データ配列)及び測定条件(励起光側分光器、蛍光側分光器のそれぞれのスリット幅、サンプリング間隔等)を記憶し、分析者の要求によって出力されるようにしておく。

【0038】次に、3次元測定データのピーク検出の手順について示す。ピーク検出に際しては、まず分析者が、ピーク検出対象となるデータ処理装置4に記憶された測定データを指定することから始まる。

【0039】測定データが指定され、ピーク検出を開始すると、図3に示す手順で判定を行う。

【0040】まず、手順1において、励起光波長(Ex)方向へスキャンする。そして、蛍光強度のピーク(極大値)検出を行い、ピークM1点～ピークMn点を得る。

【0041】次に、手順2において、蛍光波長(Em)方向へスキャンする。手順1と同様に蛍光強度のピーク(極大値)検出を行い、ピークN1点～ピークNn点を得る。

【0042】手順3において、上記手順1及び2で取得した各ピーク点のデータの関連性を求める。ピーク点M1～Mmのそれぞれの蛍光波長を調べ、ピーク点N1～Nnの蛍光波長と一致するかどうかを調べる(逆に、ピーク点N1～Nmのそれぞれの励起光波長を調べ、ピーク点M1～Mnの励起光波長と一致するかどうかを調べても良い)。蛍光波長あるいは励起光波長が一致するものがあれば、それを正式な3次元ピークの頂点であると認識して、新たにピーク点P1～Ppとして、ナンバリングしていく。

【0043】手順4において、手順3で求めた各ピーク点Pに対して、正しい蛍光ピークであるかを判定する。ピーク判定としては、各ピークPが以下の条件式を満たすかどうかで行われる。

【0044】

た波長のところにピークが現れてしまう。

【0046】したがって、条件①式の右辺は、このずれ量を吸収するために設定されるものである。

【0047】上式において、ピーク点Pが散乱光のピークであれば、上記式の左辺の解は「0」となる。ただし、励起光側波長正確さ、及び蛍光側波長正確さが、例えば、それぞれ「3nm」と設定されているときは、左辺の解が±6nm以下であれば、そのピークPは散乱光

であると見なされる。

【0048】この励起光側及び蛍光側波長正確さの設定値を大きくするか、小さくするかで、散乱光として削除する範囲が変わってくる。適切な設定値を選択することによって、図2の散乱光のピーク21のようなピークに掛った、いわゆるショルダーピークのようなピークであっても、散乱光として機械的に削除してしまうことを防ぐことが出来る。

【0049】各ピークPが上記条件①式を満たしている場合、蛍光ピークであると判断し、ピーク判定を完了する。

【0050】上記条件を満たしていない場合、散乱光、N次光、1/N次光の可能性ありと判定して、手順5の「散乱光チェック」へ進む。

【0051】手順5において、散乱光、N次光、1/N次光の可能性ありと判断されたピーク点Pを、測定条件（スリットの大きさ、サンプリング間隔）を基に2つの判定基準に分け、それぞれの条件式を満たすかどうかをチェックする。

【0052】判定基準（A）：

蛍光スペクトルのサンプリング間隔 \geq 「励起光側スリットあるいは蛍光側スリットの大きい方の大きさ」
この判定基準（A）を満たす測定条件で測定されたデータの場合、判定を行っているピーク点Pの励起光方向の長波長側のデータを判断し、ピーク点Pと同じ蛍光波長に他のピーク点があれば（条件②-1）、蛍光ピークと確定する。

【0053】判定基準（B）：

蛍光スペクトルのサンプリング間隔 $<$ 「励起光側スリットあるいは蛍光側スリットの大きい方の大きさ」
この判定基準（B）を満たす測定条件で測定されたデータの場合、判定を行っているピーク点Pの励起光方向の長波長側のデータを判断し、ピーク点Pと同じ蛍光波長とその前後何点かの蛍光波長のデータに他のピーク点があれば（条件②-2）、蛍光ピークと確定する。

【0054】上記判定における条件②を満たせないピーク点Pについては、散乱光であると判定して、蛍光ピークとしない。

【0055】ここで、判断基準（A）、（B）を設けた理由を説明する。発明が解決しようとする課題の欄で説明したように、実際の装置によって検出される蛍光ピークは、分光器におけるスリットの大きさ（励起光側分光器と蛍光側分光器でそれぞれスリットを持つが、大きいほうのスリットが問題となる）と、波長方向のサンプリング間隔（取得するデータの波長間隔）の大小関係によって、その形状が大きく変化する。

【0056】従って、本実施例においては、この大小関係を基に、上記の判断基準（A）と（B）の条件を設けている。

【0057】判断基準（A）に係る条件で測定した場

合、蛍光ピークとしては、明確なピーク座標を持つ綺麗なピーク（鋭いピーク）が検出されるため、判定しているピーク点Pから励起光をずらしたスペクトルでも、ピーク点Pと同じ蛍光波長の位置にピーク点が存在することが多い。条件②-1は、この現象を利用したものである。

【0058】判断基準（B）に係る条件の場合の蛍光ピークとしては、ピーク座標が分かりづらい、不明瞭なピーク（山なりのピーク）と成る場合が多いため、判定しているピーク点Pから励起光をずらしたスペクトルでは、ピーク点Pと同じ蛍光波長の位置にピーク点が存在せず、多少ずれてしまっていることが多い。条件②-1は、このような状態でもピークを認識するために、同じ蛍光波長だけでなく、その前後ろの波長も判断対象とするものである。

【0059】そして、判断対象となった波長にもピークが存在すれば、ピーク点Pは蛍光ピークであるとして認識するものである。これにより、判断基準（B）の条件においても、漏れなく自動的に蛍光ピークを検出することが出来るものである。

【0060】上記の図3のフローチャートに示すように、これら一連の処理によって、蛍光ピークのみを効率よく検出することができる。

【0061】次に、本発明の蛍光分光光度計におけるGUI上の操作画面を説明する。図4は、ピーク検出を実行する際に、操作パネル6上に表示される画面の概略図である。図4において、表示画面は3分割されており、領域Ⅰが3次元データの等高線表示画面、領域Ⅱが励起波長・蛍光波長それぞれについての2次元断面表示、領域Ⅲがピーク波長データ表示画面となる。

【0062】また、画面右にあるPは、ピーク検出実行を指示するためのピーク検出実行アイコンである。ピーク検出を行う際には、検出対象となる3次元測定データをデータ処理装置4内のメモリから呼び出し、図4の領域Ⅰに表示する。ピーク検出が実行される前の状態では、領域Ⅱは空白となっている。

【0063】ピーク検出アイコンPをマウス等のポインティングデバイスによりクリックすることで、図5に示すように、ピーク検出のパラメータを設定するための画面が表示される。

【0064】ここで表示される設定項目としては、上記条件①の判断に用いる励起光及び蛍光の「波長正確さ」と、上記条件②で用いるピーク点Pの前後何点までのデータを判断範囲とするのかを示す「検出感度」と、ピークとして認識する蛍光強度レベルを設定する「検出感度」がある。これらの設定項目の値は、分析者により設定される。

【0065】パラメータ決定後、ピーク検出が実行され、本発明のピーク判定の結果、蛍光ピークとして判定されたピークが図4の領域Ⅲ上に、結果として表示

される。このときの状態を図6に示す。図6の例は、図2で示した三次元測定データをピーク検出した結果である。

【0066】図7に、図6の領域ⅠⅠⅠの結果表示の詳細を示す。図7中、左より、ピークナンバー、ピーク波長 E_x/E_m 、ピーク値(高さ)を示す。図7のピークナンバー1は、図2のピーク22に相当する。同じく、ピークナンバー2は、図2のピーク21に相当する。

【0067】この領域ⅠⅠⅠに示されたデータは、ピークナンバーごとにポインティングデバイスから選択することが出来、分析者が任意のピークナンバーを選択すると、領域Ⅰの等高線表示画面において、選択したピークナンバーのピーク座標(蛍光波長/励起光波長)に相当する位置にカーソルが反映される。

【0068】図6は、ピークナンバー1を選択し、領域Ⅰの対応する波長位置に十字カーソルが表示された例である。同時に、領域ⅠⅠにも対応する波長のスペクトルと、カーソルが表示される。

【0069】このように、それぞれの領域がリンクしており、分析者が数値として得られたピーク検出結果から、領域Ⅰ、ⅠⅠを用いて、ピークの位置を視覚的にイメージし易くしている。

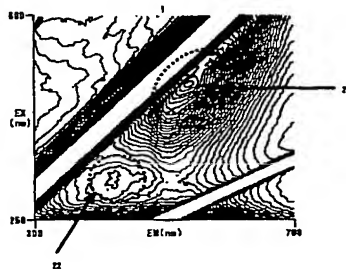
【0070】本発明の判定法を用いれば、図2のような測定結果が得られた場合であっても、図6に示すように、確実に蛍光ピークとして認識することが可能となる。

【0071】

【発明の効果】本発明によれば、3次元データを扱う蛍光光度計において、散乱光に非常に近いところに現れた蛍光ピークや、形状が分かりづらいピークであっても、精度よく認識することが出来る。

【0072】また、表示画面において、検出したピーク結果の数値データを、検出対象となった測定データの2次元及び3次元のスペクトル画面に容易に反映させることが出来るので、ユーザフレンドリーな測定環境を実現できる。

【図2】



【0073】これにより、測定結果の解析時間短縮や、解析を行う分析者の能力に依存した解析結果の個人差を排除する、等の効果を得ることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明が適用される分光蛍光光度計の概略構成図である。

【図2】分光光度計によって得られる測定データの例を示す図である。

【図3】本発明の判定におけるフローチャートである。

10 【図4】本発明の表示画面の一部を表した例を示す図である。

【図5】図4の画面の具体例を示す図である。

【図6】ピーク検出パラメータ設定ウィンドウの一例を示す図である。

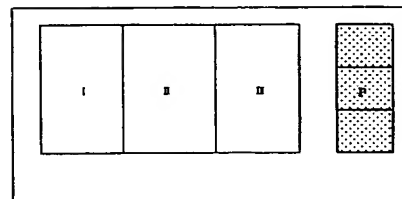
【図7】領域ⅠⅠⅠの具体例を示す図である。

【図8】スリット幅とサンプリング間隔を説明するための図である。

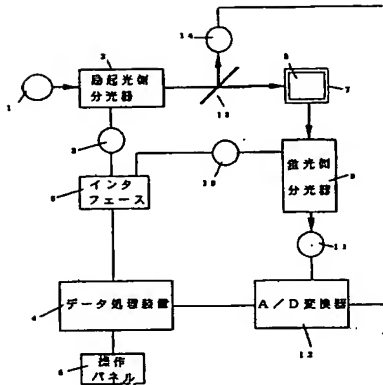
【符号の説明】

1	光源
20 2	励起光側分光器
3	励起光側バルスモータ
4	データ処理装置
5	インタフェース
6	操作パネル
7	試料セル
8	測定試料
9	蛍光側分光器
10	蛍光側バルスモータ
11	検知器
30 12	A/D変換器
13	ビームスプリッタ
14	モニタ検知器
I	3次元データ等高線表示画面領域
ⅠⅠ	2次元断面表示画面領域
ⅠⅠⅠ	ピーク波長表示画面領域
P	ピーク検出実行アイコン

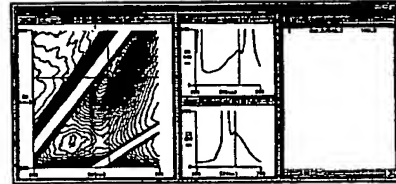
【図4】



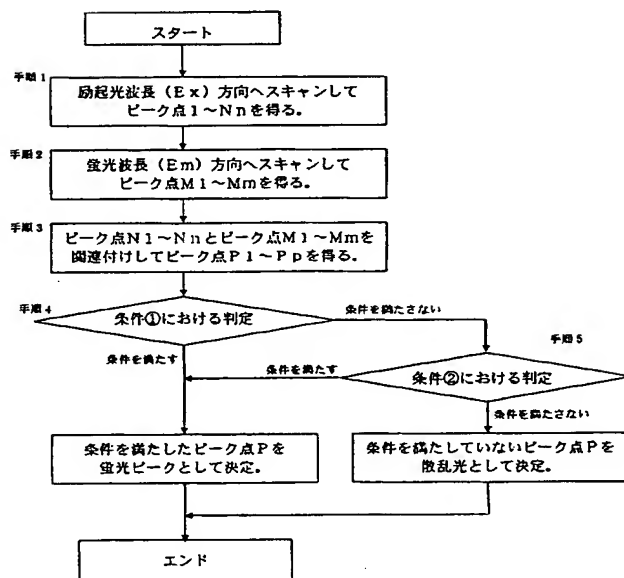
【図1】



【図6】



【図3】



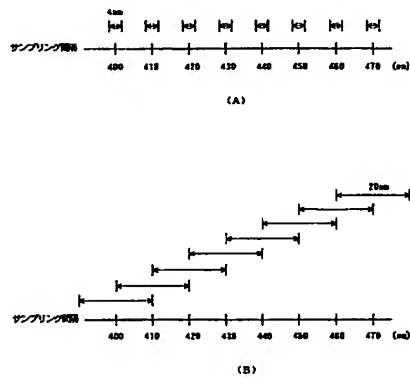
【図5】

ピーク検出パラメータ設定	
波長正確さ (励起光)	1.0 nm
波長正確さ (蛍光)	1.0 nm
検出感度	1
検出閾値	10.0

【図7】

No.	ピーク EX/EM	高さ (DATA)
1	408.5/448.9	126.4
2	408.5/448.9	122.8

【図8】



フロントページの続き

(72)発明者 中村 孝一
茨城県ひたちなか市大字市毛1040番地 株
式会社日立サイエンスシステムズ内

(72)発明者 大和田 実
茨城県ひたちなか市市毛882番地 株式会
社日立製作所計測器グループ内
Fターム(参考) 2G043 AA01 EA01 FA06 GA02 GA04
GA08 GA21 GB21 HA09 JA01
LA01 NA01 NA06

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.